

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 06165655
PUBLICATION DATE : 14-06-94

APPLICATION DATE : 26-06-92
APPLICATION NUMBER : 04191386

APPLICANT : MEIJI MILK PROD CO LTD;

INVENTOR : KUWATA TAMOTSU;

INT.CL. : A23L 1/305 A23J 3/08 A23J 3/34 A61K 35/20 A61K 37/02 A61K 37/16 // A23C 21/02

TITLE : COMPOSITION FOR REDUCING CHOLESTEROL

ABSTRACT : PURPOSE: To obtain a cholesterol-reducing composition, containing a when protein derivative, capable of extremely efficiently reducing the cholesterol level in blood serum, having high safety and useful as a medicine or food and drink for preventing and treating hypercholesterolemia.

CONSTITUTION: The composition comprises a whey protein derivative as an active ingredient. For example, a sweet whey separated in producing a cheese from cow's milk, a purified whey protein such as casein whey separated in producing casein or α -lactalbumin and β -lactoglobulin which are fractionated whey proteins prepared by fractionating the whey protein or an enzymic hydrolyzate, etc., which is a purified whey protein can be used as the whey protein derivative.

COPYRIGHT: (C)1994,JPO&Japio

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-165655

(43) 公開日 平成6年(1994)6月14日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L 1/305				
A 2 3 J 3/08		7236-4B		
3/34		7236-4B		
A 6 1 K 35/20		7431-4C		
37/02	A.D.N	8314-4C		

審査請求 未請求 請求項の数10(全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平4-191380

(22) 出願日 平成4年(1992)6月26日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成4年4月1日、
社団法人日本農芸化学会開催の「日本農芸化学会1992年
度大会」において文書をもって発表

(71) 出願人 000006138

明治乳業株式会社

東京都中央区京橋2丁目3番6号

(72) 発明者 長 岡 利

岐阜県岐阜市柳戸1-1 岐阜大学 農学
部 内

(72) 発明者 金 丸 隆 敬

岐阜県岐阜市柳戸1-1 岐阜大学 農学
部 内

(72) 発明者 葛 谷 泰 雄

岐阜県岐阜市柳戸1-1 岐阜大学 農学
部 内

(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 コレステロール低減用組成物

(57) 【要約】

【構成】 ホエイ蛋白質、ホエイ蛋白質精製物、ホエイ
蛋白質分画物、及び／又はこ（れら）の酵素分解物から
なるコレステロール低減用組成物。

【効果】 安全且つ効率的に血清コレステロール濃度を
低減させることを目的として、医薬又は飲食品タイプと
して高コレステロール症の予防、治療に有用である。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ホエイ蛋白質誘導体を含有することを特徴とするコレステロール低減用組成物。

【請求項2】 ホエイ蛋白質誘導体がカゼインホエイ又はスイートホエイ由来のものであることを特徴とする請求項1に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項3】 ホエイ蛋白質誘導体がホエイ蛋白質を精製してなるホエイ蛋白質精製物であることを特徴とする請求項1に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項4】 ホエイ蛋白質精製物を更に酵素を用いて加水分解してなる酵素分解物を含有することを特徴とする請求項3に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項5】 ホエイ蛋白質精製物がホエイ蛋白質濃縮物(WPC)又はホエイ蛋白質単離物(WPI)であることを特徴とする請求項3又は請求項4に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項6】 ホエイ蛋白質誘導体がホエイ蛋白質を分離精製して得られるホエイ蛋白質分画物であることを特徴とする請求項1に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項7】 ホエイ蛋白質分画物を更に酵素を用いて加水分解してなる酵素分解物を含有することを特徴とする請求項6に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項8】 ホエイ蛋白質分画物が α -ラクトアルブミン又は β -ラクトグロブリンであることを特徴とする請求項6又は請求項7に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項9】 加水分解酵素がペプシン又はトリプシンであることを特徴とする請求項4又は請求項7に記載のコレステロール低減用組成物。

【請求項10】 該組成物がコレステロール低減剤又はコレステロール低減用食品であることを特徴とする請求項1～請求項9のいずれか1項に記載のコレステロール低減用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、コレステロール低減用組成物に関するものであり、更に詳細には、ホエイ蛋白質(乳清蛋白質)を処理して得られる誘導体を含有せしめてなる、血清コレステロール濃度を低減せしめるのにきわめて有効な組成物に関するものである。

【0002】 本発明に係る組成物は、コレステロール低減剤として医薬タイプで使用するほか、コレステロール低減用の飲料、食品、栄養食品、機能性食品、特定保健用食品等飲食品タイプで利用し、コレステロールの低減のほか、コレステロール蓄積の予防等に広く利用できるものである。

【0003】

【従来の技術】 ステロールとその誘導体は生体に必須の構成成分である。トリアシルグリセロールはエネルギー

2

貯蔵としての役割を果たすだけであるが、コレステロールやその脂肪酸エステルは細胞膜の重要な構成成分であると同時に、胆汁酸・ステロイドホルモン・ビタミンDなどの体内で種々の重要な機能を果たす誘導体を生じる。コレステロールの代謝調節は心血管系を健康に保つ上で重要であり、その異常は動脈硬化症をきたすことになる。

【0004】 近年、食餌性繊維をはじめ、大豆蛋白質、不飽和脂肪酸など、さまざまな食品成分がコレステロール代謝に好ましい影響を及ぼすことが、国内外で活発に研究されている。

【0005】 例えば、キャロルとハミルトンは血漿コレステロール値に対する食餌蛋白質について検討し、大豆蛋白質がカゼイン蛋白質に比べて血漿コレステロール値を低下させることを明らかにしている(K. K. Carroll and R. M. J. Hamilton, J. Food Sci., 40, 18-23(1975))。

【0006】 また、特開昭60-11425によれば、大豆蛋白質を酵素を用いて加水分解して得られた分子量200～1500のオリゴペプチドに血中コレステロール濃度低下作用があることが示されている。このように大豆蛋白質などを代表とする植物性蛋白質、およびその酵素分解物などには、一般に血清コレステロール低下作用、抗動脈硬化作用を有すると考えられている。

【0007】 一方、動物性蛋白質については、Mannらが食事における多量の発酵乳と血清コレステロールの関係について述べており、ヨーグルトに血清コレステロール低下作用のあることを示している(G. V. Mann and A. Spaerry, Am. J. Clin. Nutr., 27, 464-469(1974), G. V. Mann, Atherosclerosis, 26, 335(1977))。また、ヨーグルトのみならず、牛乳や脱脂乳にも血清コレステロールを低下させる効果があることが人間やラットについて認められている(G. Hapner et al., Am. J. Clin. Nutr., 32, 19(1979), C. R. Nair and G. V. Mann, Atherosclerosis, 26, 363(1979))。

【0008】 牛乳はカルシウム、ビタミンなどを含めた各種のバランスの良い供給源であるが、最近、牛乳中には種々の機能を有する物質が含まれることが明らかにされている。

【0009】 例えば、牛乳中に含まれる蛋白質を酵素で分解して得られるペプチドに関する研究は盛んに行われている。牛乳中の全窒素源は約80%がカゼイン、残りは主として乳清蛋白質と非蛋白質窒素化合物である。牛乳のカゼイン蛋白質は主に α カゼイン、 β カゼインからなるが、これをトリプシンで酵素分解して得られるペプチドには、カルシウムの吸収作用に寄与するといわれるカゼインホスホペプチド、血圧調整に寄与するといわれるアンジオテンシン調整ペプチド等の存在が知られている。

【0010】 これまでの研究においては、先に示したよ

3

うに発酵乳について、コレステロール低下作用を示すことが認められているにすぎない。一方、K. X. Carrollによる研究に示されているように、カゼインおよびカゼインをパンクレアチンで酵素分解した蛋白質分解物には血清コレステロール濃度低下作用は認められていない。

【0011】これに対して本発明は、ホエイ蛋白質誘導体、つまりその処理物、精製物ないし分画物に顕著な血清コレステロール濃度低減作用があることをはじめて見出し、この新知見を基礎として完成されたものであるが、このようなことは従来全く知られておらず新規である。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、安全性にすぐれしかも顕著な血清コレステロール濃度低減作用を有する物質を新たに開発する目的でなされたものである。

【0013】

【課題を解決するための手段】本発明は上記目的を達成するためになされたものであって、大豆蛋白質などを代表とする植物性蛋白質は、抗動脈硬化作用を有すると考えられ、すでに大豆蛋白質からは血清コレステロール低下作用を発現する可能性のある分子量約1万のペプチドが単離され現在活発にその有効成分の検討が行われている現状に鑑み、大豆蛋白質と比肩される良質の蛋白質である牛乳蛋白質に着目し、しかも従来、チーズ製造やカゼイン製造時に副生しており格別の用途もなく廃棄されていた乳清（ホエイ）の有効利用の開発という面から、乳清蛋白質に着目した。そして乳清蛋白質及びその酵素分解物中の血清コレステロール濃度低減作用の有無について研究を重ね、その作用発現に至る過程を解明する中で、本発明を完成するに至ったのである。すなわち、

【0014】① ウィスター系雄ラットに対し、コレステロールを添加した場合としない場合においてカゼイン食とホエイ蛋白質食を与えて、血清中の総コレステロール濃度を比較したところ、ホエイ蛋白質はカゼインに比べて血清コレステロール値を有意に低下させる。

【0015】② 牛乳中のホエイ蛋白質を限外濾過装置（UF）で濃縮精製した濃縮物（WPC）は、コレステロール添加系、無添加系のいずれの場合においても、カゼインと比べて血清および肝臓コレステロール濃度を有意に低下させる。また、WPCをさらに脱乳糖、脱ミネラルして、精製を行ったホエイ蛋白質単離物（WPI）はコレステロール添加系において、血清および肝臓コレステロール濃度を有意に低下させる。

【0016】③ 試料にコレステロールを含有し、高コレステロール血症にしたラットにおいてはホエイ蛋白質の分画物、すなわち α -ラクトアルブミン（ α -L a）、 β -ラクトグロブリン（ β -L g）も血清コレステロール濃度を有意に低下させる。

【0017】④ 試料にコレステロールを含有し、高コレステロール血症にしたラットにおいては、 β -ラクト

4

グロブリンをトリプシンで加水分解した分解物（ β -L g T）、あるいはWPIを5%溶液とし、トリプシンを用いて、WPI中の β -ラクトグロブリンのみを優先的に酵素分解したWPI（ α WPI）についても血清コレステロール濃度を有意に低下させる。

【0018】⑤ 試料にコレステロールを含有し、高コレステロール血症にしたラットにおいては、WPI、 α -L a、 β -L g、 β -L gのペプシン加水分解物には血清コレステロール濃度を有意に低下させることが認められるが、カゼインおよびカゼインのペプシン分解物にはその傾向は認められない。

【0019】⑥ 酸カゼインやカゼインを酵素で分解したときに得られるカゼインホスホペプチド（CPP）には血清および肝臓コレステロール濃度に対する影響は認められない：ことを見出したのである。

【0020】以上の実験上の事実から、従来には報告されたことのなかった動物性蛋白質である牛乳蛋白質から調製したホエイ蛋白質やその種々の分画物、あるいはホエイ蛋白質の酵素分解物に血清コレステロール濃度低減作用が認められること、そしてカゼイン及びその酵素分解物にはその作用が認められないことを確認し、これらの新知見に基づき更に研究の結果、本発明の完成に至った。

【0021】すなわち本発明は、ホエイ蛋白質誘導体を含有するコレステロール低減用組成物を提供するものである。本発明において有効成分として使用されるホエイ蛋白質誘導体の起源であるホエイ蛋白質としては、ホエイ蛋白質であればすべてのものが使用でき、例えば、牛乳からチーズを製造するときに分離製造されるスイートホエイ、カゼインを製造するときに分離されるカゼインホエイ等が適宜使用される。ホエイ蛋白質誘導体としては、これらのホエイ蛋白質を精製してなるホエイ蛋白質精製物、例えば、ホエイを脱乳糖、脱ミネラルして蛋白質を固形分当り75%程度まで濃縮したホエイ蛋白質濃縮物（Whey Protein Concentrate、WPC）、あるいは、WPCを更に電気透析により脱ミネラルして精製し、蛋白質濃度を90%以上にまで高め逆に脂肪や炭水化物は低下せしめてなるホエイ蛋白質単離物（Whey Protein Isolate、WPI）等が使用できる。また、これらのホエイ蛋白質精製物を酵素処理して得られる酵素分解物も同様に使用することができ、本発明においては、ホエイ蛋白質から誘導される物質が広く包含される。

【0022】したがって、本発明においては、上記のほか更に、例えばホエイ蛋白質を分画して得られるホエイ蛋白質分画物、例えば、 α -ラクトアルブミン（ α -L a）、 β -ラクトグロブリン（ β -L g）、あるいは、これらの酵素分解物も同様に使用することができる。なお本発明において各種ホエイ蛋白質ないしその誘導体を加水分解するのに使用する酵素としては、分子量数百から数千のペプチドにまで加水分解できる酵素で、動物、

5

植物、微生物起源のプロテアーゼが広く使用でき、例えばババイン、フィシン、プロメライン、トリプシン、キモトリプシン、カリクレイン、ペプシン、パンクレアチン等が1種又は2種以上を組合わせて有利に使用できるが、エンドペプチダーゼが好適であり、特にペプシン、トリプシンの使用が有利である。

【0023】酵素分解は常法によって行えばよく、温度、pH、酵素基質等加水分解の条件に格別の制限はないが、例えばペプシンを用いる場合は次のようにして行うことができる。

【0024】酵素分解の条件はpH1以上3未満、さらに好ましくは、pH1.5ないし2付近が適している。酵素分解の温度は35℃以上45℃未満、さらに好ましくは37℃以上43℃未満が適している。

【0025】酵素分解の基質蛋白質としては、特に、牛乳からチーズを製造するとき製造されるスイートホエイ、またはカゼインを製造するとき分離されるカゼインホエイを脱乳糖・脱ミネラルして得たホエイ蛋白質濃縮物(WPC)、蛋白質濃度を90%以上にまで高めたホエイ蛋白質単離物(WPI)あるいはホエイ蛋白質をさらに分画して得られるβ-ラクトグロブリン(β-Lg)が適している。

【0026】酵素分解の蛋白質の濃度は10%未満、さらに好ましくは、3%以上5%未満が適している。酵素分解の際に添加すべき酵素の量は基質蛋白質に対して0.1%以上10%未満、さらに好ましくは1%以上5%未満が適している。

【0027】次にトリプシンを用いた場合について説明する。

【0028】酵素分解の条件はpH5以上9未満、さらに好ましくは、pH7ないし8付近が適している。酵素分解の温度は35℃以上45℃未満、さらに好ましくは37℃以上43℃未満が適している。

【0029】酵素分解の基質蛋白質としては、特に、牛乳からチーズを製造するとき製造されるスイートホエイ、またはカゼインを製造するとき分離されるカゼインホエイを脱乳糖・脱ミネラルして、蛋白質濃度を90%以上にまで高めたホエイ蛋白質単離物(WPI)あるいはホエイ蛋白質をさらに分画して得られるβ-ラクトグロブリン(β-Lg)が適している。

【0030】酵素分解の蛋白質の濃度は10%未満、さらに好ましくは、3%以上5%未満が適している。酵素分解の際に添加すべき酵素の量は基質蛋白質に対して0.1%以上10%未満、さらに好ましくは1%以上5%未満が適している。

【0031】本発明の蛋白質加水分解物は、このようにして加水分解した後に不溶性画分を遠心分離などの手段によって除去して精製することにより、更にすぐれた血清コレステロール濃度低減作用を有する蛋白質加水分解物を得ることができる。

6

【0032】本発明に係るコレステロール低減用組成物は、上記したホエイ由来の各種物質を一種又は二種以上有効成分として含有してなるものであって、飲食品又は医薬として用いるものである。これらの有効成分を食品として使用する場合には、それ(ら)をそのまま添加したり、他の食品ないしは食品成分と併用したりして適宜常法にしたがって使用できる。また、医薬として使用する場合には、経口又は非経口投与することができる。経口投与の場合には、例えば常法にしたがい、錠剤、顆粒剤、粉末剤、カプセル剤、散剤とすることができ、又、非経口投与の場合には、例えば注射薬製剤、点滴剤、坐剤等として使用することができる。

【0033】本発明に係る有効成分は、天然起源であるために毒性が全くないか又は極めて低く、きわめて安全である(LD₅₀>3000mg/kg皮下、>5000mg/kg経口：いずれもラット)。

【0034】以下、本発明を製造例及び実施例により更に詳しく説明する。

【0035】

20 【製造例1】新鮮な生牛乳よりチーズを製造するとき分離されたスイートホエイ100lを原料とし、遠心分離機を用いて、ホエイ中のカゼインの微粒子を分離除去した。ついで、エバポレーターによって固形分濃度45~50%に濃縮し、その後、プレート式熱交換器によって30℃に急冷し、ジャケット式タンクに移した。そこで攪拌しながらさらに15~20℃に冷却し、出来るかぎり微細な結晶が得られるように6~8時間放置し、乳糖を結晶分離した。ついで、限外濾過によってホエイ中の蛋白質を固形分濃度として76%にまで濃縮し、さらに電気透析法とイオン交換法により、ホエイ中のミネラルを分離除去した。得られた液を噴霧乾燥し、WPC0.75kgを得た。

【0036】

40 【製造例2】新鮮な生牛乳よりチーズを製造するとき分離されたスイートホエイ100lを原料とし、遠心分離機を用いて、ホエイ中のカゼインの微粒子を分離除去した。ついで、エバポレーターによって固形分濃度45~50%に濃縮し、その後、プレート式熱交換器によって30℃に急冷し、ジャケット式タンクに移した。そこで攪拌しながらさらに15~20℃に冷却し、出来るかぎり微細な結晶が得られるように6~8時間放置し、乳糖を結晶分離した。ついで、限外濾過によってホエイ中の蛋白質を固形分濃度として90%以上にまで濃縮し、さらに電気透析法とイオン交換法により、ホエイ中のミネラルを分離除去した。得られた液を噴霧乾燥し、WPI0.62kgを得た。

【0037】

50 【製造例3】新鮮な生牛乳よりチーズを製造するとき分離されたスイートホエイ100lを原料とし、遠心分離機を用いて、ホエイ中のカゼインの微粒子を分離除去

7

した。ついで、エバポレーターによって固形分濃度45～50%に濃縮し、その後、プレート式熱交換器によって30℃に急冷し、ジャケット式タンクに移した。そこで攪拌しながらさらに15～20℃に冷却し、出来るかぎり微細な結晶が得られるように6～8時間放置し、乳糖を結晶分離した。ついで、限外濾過によってホエイ中の蛋白質を固形分濃度として90%以上にまで濃縮し、さらに、電気透析法とイオン交換法により、ホエイ中のミネラルを分離除去した。得られた液を蛋白質濃度が1.0%になるように加水し、ついで、pHを4.25に調整した。このpH調整液をジャケット加熱機及び攪拌機をそなえたタンク中で60℃に加熱し1時間保持した。ついで、保持液を40℃に冷却し、アルファラバル社製MRPX-418型遠心分離機にて沈澱部分と上澄部分を分離した。得られた沈澱部分を10%水酸化ナトリウム溶液にて中和し、常法に従って、殺菌、濃縮、噴霧乾燥し、 α -ラクトアルブミンに富む画分(α -ラクトアルブミン組成物)0.11kgを得た。

【0038】

【製造例4】製造例3で得られた上澄部分を、常法に従って殺菌、濃縮、噴霧乾燥し、 β -ラクトグロブリンに富む画分(β -ラクトグロブリン組成物)0.38kgを得た。

【0039】

【製造例5】WPI10kgを190kgの水に溶解し、液温を35～37℃とした。これに水酸化ナトリウムを加えて、pHを7.5～8.0とし、あらかじめ、0.01N HCl溶液に溶解したトリプシン(NOVO社4500K)100gを加えた。pHを保持しながら約55分酵素分解を行った後、ただちに急冷し、pHを6.9～7.0とした後に、プレート式殺菌機によって、酵素失活を行った。この液を噴霧乾燥することによって、WPI酵素分解物(α WPI)約8.5kgを得た。

【0040】

8

【製造例6】製造例4の方法によって製造した β -ラクトグロブリン組成物10kgを190kgの水に溶解し、液温を42℃とした。これに水酸化ナトリウムを加えて、pHを7.5～8.0とし、あらかじめ、0.01N HCl溶液に溶解したトリプシン(NOVO社4500K)100gを加えた。pHを保持しながら約3時間酵素分解を行った後、ただちに急冷し、pHを6.9～7.0とした後に、プレート式殺菌機によって、酵素失活を行った。この液を噴霧乾燥することによって、 β -ラクトグロブリン酵素分解物(β -Lg T)約9.0kgを得た。

【0041】

【製造例7】製造例4の方法によって製造した β -ラクトグロブリン組成物10kgを190kgの水に溶解し、液温を35～37℃とした。これに濃塩酸を加えて、pHを1.7～1.9とし、あらかじめ、0.01N HCl溶液に溶解したペプシン(オルタナ社)100gを加えた。pHを保持しながら約20時間酵素分解を行った後、pHを6.9～7.0とし、ただちに80℃30分間加熱し、酵素の失活をおこなった。この液を5000r.p.m.20分間遠心分離して、沈殿物を得た。これを凍結乾燥することによって、 β -ラクトグロブリン酵素分解物(β -Lg P)約4.5kgを得た。

【0042】

【実施例1】初体重90～110g前後のウイスター系雄ラットに、市販の固形飼料を5日間与えた。その後、4群(1群各6匹)に分けて各々特定の飼料を与えた。その組成を下記表1、表2、表3に示す。すなわちC群(カゼイン添加、コレステロール無添加)、CC群(カゼイン、コレステロール添加)、W群(WPC添加、コレステロール無添加)、WC群(WPC、コレステロール添加)とした。

【0043】

【表1】

飼料組成 (g/kg)

飼料成分	C	CC	W	WC
分離蛋白質 (250g 蛋白質)	292.4	292.4	330.5	330.5
コーン油	20	20	20	20
ミネラル混合物 (表2)	35	35	35	35
ビタミン混合物 (表3)	10	10	10	10
コリン塩酸塩	2	2	2	2
乳糖	0	0	36.4	36.4
蔗糖	213.5	209.4	200.8	196.7
澱粉	427.1	418.7	401.7	393.3
コレステロール	0	10	0	10
胆汁酸ナトリウム	0	2.5	0	2.5

C: カゼイン; CC: カゼイン+コレステロール

W: WPC; WC: WPC+コレステロール

【0044】

* * [表2]

ミネラル混合物

A I N-76 ミネラル混合物 (mg/kg):

Ca, 5200; P, 4000; K, 3600; Na, 1020; Mg, 500;

Mn, 54; Fe, 35; Cu, 6; Zn, 30; I, 0.2; Cr, 2.0;

Cl, 1560; 硫酸塩, 1000.

【0045】

※30※ [表3]

ビタミン混合物

A I N-76 ビタミン混合物 (mg/kg):

チアミン-HCl, 6; リボフラビン, 6;

ピリドキシン-HCl, 7; ニコチン酸, 30;

パントテン酸Ca, 16; 葉酸, 2;

ビオチン, 0.2; メナジオン, 0.05;

パルミチン酸レチニル, 2.67 (4,000 I U);

エルゴカルシフェロール, 0.025 (1,000 I U);

dl- α -トコフェロール酢酸塩, 100 (100 I U).

【0046】試験期間は70日間とし、2日毎に体重を測定し、食餌摂取量は28日目以降に測定し、下記表4の結果を得た。なお、以下において、数値は、1群6匹の平均±SEMとし、そして、実験結果の統計的分析に

は、Duncan's multiple range testとStudent's t-testを用いた。

【0047】

[表4]

11					12
群		C	CC	W	WC
体重増 (g/日数)					
日数 0-7		28.8±1.3a	28.8±1.5a	30.0±0.7a	30.0±1.5a
日数 0-14		62.5±2.6a	64.0±2.8a	60.3±2.0a	62.0±2.5a
日数 0-21		91.8±2.7a	92.5±3.4a	86.0±2.0a	92.3±3.0a
日数 0-28		115.2±3.8a	115.5±4.5a	106.0±2.5a	112.5±4.3a
日数 0-70		167.0±5.2a	177.7±8.1a	162.7±4.3a	167.0±9.0a
食餌摂取量 (g/日数)					
28日以降		13.1±1.1a	12.9±1.4a	10.8±1.4a	13.5±0.9a

【0048】また、実験食摂取後、0、7、14、21、28、35、42、49、56、63日目の午後1時30分から、エーテル麻酔下でヘパリン処理したキャピラリーにより尾静脈から採血し、血清コレステロールを酵素法により測定して下記表5の結果を得た。70日目にラットを心臓採血により屠殺した。血清は3000rpm, 15分間の遠心分離により調製した。血清コレステ*

*テロールの定量は酵素法、具体的には市販のキット（モノテストコレステロール；ベーリンガー・マンハイム山之内株式会社）を用いて測定した。スタンダードは（プレチセットコレステロール；ベーリンガー・マンハイム山之内株式会社）を用いた。

【0049】

【表5】

群	C	CC	W	WC
血清コレステロール (mg/dl)				
0日	76.0±3.2a	72.5±5.5a	70.5±2.4a	68.2±1.7a
7日	95.6±4.9b	96.6±5.1b	69.2±1.5a	90.2±6.3b
14日	86.0±4.7b	91.4±4.9b	64.5±2.5a	89.3±4.1b
21日	100.8±5.5c	111.2±6.5c	63.5±2.5a	78.7±3.0b
28日	104.6±3.6bc	119.1±7.5c	70.0±4.1a	87.9±7.6b
35日	121.0±4.4c	123.9±7.5c	79.0±3.1a	101.2±3.8b
42日	116.7±3.5b	130.2±4.6c	70.4±5.6a	110.5±4.1b
49日	128.4±6.1c	134.2±9.9c	70.0±4.3a	90.3±3.4b
56日	121.1±6.1bc	124.0±8.4c	80.1±3.8a	102.1±8.7b
63日	129.6±6.9c	149.8±8.3c	81.4±3.5a	107.2±9.8b

【0050】また、飼育期間中、3日間糞を集め、全糞量、糞中の総ステロイド、酸性ステロイド、中性ステロイド（コプロスタノール、コレステロール）をそれぞれ

測定し、下記表6の結果を得た。

【0051】

【表6】

	13		14	
群	C	CC	W	WC
血清コレステロール(mg/dL)				
42日	116.7±3.5b	130.2±4.6c	70.4±5.6a	110.5±4.1b
糞酸性ステロイド($\mu\text{mol}/3\text{日間}$)				
	17.6±2.0b	56.0±3.0a	22.2±3.0b	61.2±8.7a
糞中性ステロイド($\mu\text{mol}/3\text{日間}$)				
	61.3±26.8c	216.9±36.9b**	30.1±8.4c	401.5±62.7a***
コプロスタノール($\mu\text{mol}/3\text{日間}$)				
	16.8±6.0a	9.6±2.4a	12.0±2.7a	16.9±5.3a
コレステロール($\mu\text{mol}/3\text{日間}$)				
	44.5±21.6c	207.3±37.8b**	18.0±6.2c	384.4±58.5a***
糞総ステロイド($\mu\text{mol}/3\text{日間}$)				
	79.9±31.0c	272.9±37.7b**	50.8±10.3c	411.4±78.2a**
糞重量(g/3日間)				
	1.11±0.1ab	1.33±0.1b	0.86±0.1a	1.27±0.2b
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001				

【0052】これらの結果から明らかとなるように、体重増加量は70日間を通じて、4群間に有意な変化は見られなかった。また、食餌摂取量においても変化はみられなかった。血清中の総コレステロールは、実験食摂取後7日目から、W群でC群に比べて有意な減少が見られた。また、実験食摂取後21日目からWC群はCC群に比べ有意に減少した。最終的に食餌性コレステロール無添加の場合、添加の場合の双方で、乳清蛋白質はカゼインに比べて血清コレステロールを有意に減少させた。糞中の酸性ステロイドは、C群とW群、CC群とWC群のそれぞれの間で有意差は見られなかった。糞中の中性ステロイドはC群とW群間には有意差は見られなかったが、CC群とWC群間ではWC群が有意に上昇した。糞中の中性ステロイドをコプロスタノールとコレステロールとに分けて見てみるとコプロスタノールはC群とW群、CC群とWC群のいずれの群間においても有意差は見られなかったが、コレステロールはC群とW群間には有意差はみられなかったが、CC群とWC群間ではWC群が有意に上昇した。糞中の総ステロイドは、C群とW群間には有意差は見られなかったが、CC群とWC群間

ではWC群が有意に上昇した。糞重量においては、W群が4群間の中で有意に低かった。

【0053】上記結果から、乳清蛋白質がカゼインと比較してコレステロール無添加時、添加時のいずれにおいてもラットの血清コレステロール値を低下させることが観察され、体外へのコレステロール排泄量も高いことから、乳清蛋白質中にはコレステロール低下因子が存在することが確認された。

【0054】

【実施例2】初体重90～110g前後のウイスター系雄ラットに、市販の固形飼料を2日間与えた。その後、4群(1群各6匹)に分けて、各々特定の飼料を与えた。その組成を下記表7に示す。すなわち、C群(カゼイン)、WPI群(WPI)、 β -LG群(β -ラクトグロブリン)、 α -LA群(α -ラクトアルブミン)とし、いずれもコレステロール添加(10g/kg)とした。

【0055】

【表7】

飼料組成 (g/kg)

飼料成分	C	WPI	β -LG	α -LA
分離蛋白質 (200g 蛋白質)	232.55	215.94	274.20	219.06
コーン油	20	20	20	20
ミネラル混合物	35	35	35	35
ビタミン混合物	10	10	10	10
コリン塩酸塩	2	2	2	2
乳糖	40.35	40.36	0	33.77
澱粉	215.87	221.40	215.44	222.56
蔗糖	431.73	442.80	430.87	445.12
コレステロール	10	10	10	10
胆汁酸ナトリウム	2.5	2.5	2.5	2.5

ミネラル及びビタミン混合物は、いずれもAIN-76であって、表2、表3に示したとおりである。

【0056】試験期間は14日間とし、2日毎に体重を測定し、食餌摂取量は13日目に測定した。また、実験食摂取後、12日目の午後1時30分から、エーテル麻酔下でヘパリン処理したキャピラリーにより尾静脈から採血し、血清コレステロールを実施例1と同様にして酵素法により測定した。また更に、14日目にラットを心臓採血により屠殺し、肝臓を取り出した。肝臓は、表面に付いた血液などをよく拭きとり、0.9%塩化ナトリウ

ム溶液で洗浄後、湿重量を測定した。血清は3000rpm、15分間の遠心分離により調製した。14日目の血清については、血清総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂質、リン脂質を測定した。得られた結果を下記表8に示す。

【0057】

【表8】

群	C	WPI	β -LG	α -LA
血清総コレステロール(mg/dl)				
12日	113.2 \pm 4.8a	72.1 \pm 2.7b***	74.7 \pm 3.7b***	64.7 \pm 2.6b***
14日	160.2 \pm 11.2a	102.2 \pm 6.4b**	103.9 \pm 8.1b**	102.6 \pm 3.4b***
HDL-コレステロール(mg/dl)				
14日	44.1 \pm 1.3b	54.6 \pm 4.3b*	65.3 \pm 4.9a**	52.1 \pm 2.2b*
LDL+VLDL-コレステロール(mg/dl)				
14日	116.0 \pm 10.8a	47.5 \pm 3.3b***	38.6 \pm 5.1b***	50.5 \pm 4.5b***
血清トリグリセリド(mg/dl)				
14日	108.8 \pm 9.9b	140.7 \pm 5.4a**	116.4 \pm 11.7a*	131.7 \pm 17.7a*
血清リン脂質(mg/dl)				
14日	166.3 \pm 6.8b	182.6 \pm 13.0b	205.8 \pm 5.7a**	182.2 \pm 6.7b
体重増(g/日数)				
日数 0-7	28.7 \pm 1.8a	25.5 \pm 2.3a	28.5 \pm 2.3a	24.7 \pm 1.0a*
日数 0-14	74.7 \pm 3.0a	65.0 \pm 3.0b*	69.2 \pm 9.3ab	62.8 \pm 2.8b*
肝臓重量(g/100g体重)				
14日	5.61 \pm 0.12b	5.25 \pm 0.08c*	5.18 \pm 0.11c*	6.52 \pm 0.08a***
食餌摂取量(g/日)				
13日	15.1 \pm 0.8b*	12.7 \pm 0.6b	15.2 \pm 0.7a	14.7 \pm 0.6ab

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

【0058】また、肝臓については、総脂質、中性脂質、リン脂質、コレステロールを測定し、下記表9の結果を得た。

【0059】

【表9】

群	C	WPI	β -LG	α -LA
(mg/g肝臓)				
総脂質	108.2 \pm 4.0a	69.2 \pm 3.0b***	66.3 \pm 2.9b***	52.0 \pm 3.0c***
コレステロール	23.5 \pm 0.5a	8.8 \pm 0.6b***	7.9 \pm 0.5b***	8.3 \pm 0.7b***
トリグリセリド	54.9 \pm 3.0a	43.7 \pm 2.9bc*	44.8 \pm 2.8b*	35.7 \pm 1.7c***
リン脂質	29.8 \pm 1.1a	16.7 \pm 0.8b***	13.6 \pm 1.6b***	8.0 \pm 0.9b***
(mg/100g体重)				
総脂質	606.3 \pm 24.7a	364.7 \pm 21.2b***	344.5 \pm 20.1b***	339.1 \pm 19.2b***
コレステロール	131.5 \pm 2.3a	46.6 \pm 3.5cd***	40.8 \pm 2.9d***	54.2 \pm 4.4c***
トリグリセリド	307.7 \pm 18.2a	230.4 \pm 18.1b*	233.2 \pm 18.3b**	232.7 \pm 11.4b**
リン脂質	167.1 \pm 6.8a	87.7 \pm 8.0b***	70.5 \pm 3.8b***	62.2 \pm 5.7c***

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

【0060】また、飼育期間中、7日目から14日目の7日間糞を集め、全糞量、糞中の総ステロイド、酸性ステロイド、中性ステロイド(コプロスタノール、コレスタノール)をそれぞれ測定し、下記表10の結果を得

た。
【0061】
【表10】

21

22

群	C	WPI	β -LG	α -LA
血清総コレステロール(mg/dl)				
160.2 \pm 11.2a	102.2 \pm 6.4b**	103.9 \pm 8.1b**	102.6 \pm 3.4b***	
糞酸性ステロイド(μ mol/3日間)				
79.7 \pm 5.2b	84.7 \pm 4.7b	83.8 \pm 8.3b	128.0 \pm 3.1a***	
糞中性ステロイド(μ mol/3日間)				
321.2 \pm 50.0c	466.6 \pm 58.4b*	480.5 \pm 27.3ab*	606.7 \pm 26.9a***	
コプロスタノール(μ mol/3日間)				
3.7 \pm 0.5a	3.1 \pm 0.4a	3.1 \pm 0.4a	4.5 \pm 0.8a	
コレステロール(μ mol/3日間)				
317.5 \pm 48.8c	463.5 \pm 59.2b*	477.4 \pm 27.4ab*	602.2 \pm 26.4a***	
糞総ステロイド(μ mol/3日間)				
400.8 \pm 51.4c	551.3 \pm 57.8b*	564.3 \pm 33.2b*	734.6 \pm 28.2a***	
糞重量(g/3日間)				
1.81 \pm 0.1b	1.54 \pm 0.1bc	1.44 \pm 0.1c*	2.24 \pm 0.1a*	

* p<0.05. *** p<0.01. **** p<0.001

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

【0062】これらの結果から明らかなように、体重増加量は7日目において、各群間に有意な変化はみられなかった。また、食餌摂取量は14日目において、C群と比べてWPI群で有意に低下した。血清総コレステロールは、12日目と14日目において、WPI群、 β -LG群、 α -LA群は、C群と比較して有意に血清総コレステロールを低下させた。血清HDLコレステロールは β -LG群、WPI群、 α -LA群がC群と比べ有意に高かった。血清LDL+VLDLコレステロールはC群が他の群に比べて有意に高かった。血清中性脂質はC群が他の群に比べて有意に低かった。血清リン脂質は β -LG群が他の群に比べて有意に高かった。肝臓脂質は、総脂質、コレステロール、中性脂質、リン脂質について

の分析の結果、g肝臓あたりでは、総脂質、コレステロール、中性脂質、リン脂質のすべてにおいて、C群が他の群に比べて有意に高かった。また、100g体重あたりにおいても同様な結果が得られた。肝臓重量においてはC群と比較してWPI群、 β -LG群で有意に低く、 α -LA群で有意に高かった。糞中の酸性ステロイドは、 α -LA群で他の3群に比べて有意に上昇した。糞中の中性ステロイドは、C群に比べて他の3群で有意に上昇し、その中でも α -LA群が最も高かった。糞中の中性ステロイドをコプロスタノールとコレステロールに分けて見てみるとコプロスタノールに、有意差はみられなかったが、コレステロールは、C群と比べて他の3群が有意に高く、中でも α -LA群が最も高かった。糞

中の総ステロイドは、WPI群、 β -LG群、 α -LA群がC群に比べて有意に上昇し、中でも α -LA群が最も高い値を示した。糞重量においては、C群と比べて β -LG群が有意に低く、 α -LA群が有意に高かった。

【0063】上記結果から、乳清蛋白質およびその分画物である α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリンのすべてがカゼインと比較してコレステロール添加時でラットの血清コレステロール値を低下させることが観察され、体外へのコレステロール排泄量も高いことから、乳清蛋白質及びその分画物には血清コレステロール濃度を低下させる作用を発現する成分があることが確認された。

*

*【0064】

【実施例3】初体重90～110g前後のウイスター系雄ラットに市販の固形飼料を2日間与えた。その後、6群（1群各6匹）に分けて、各々特定の飼料を与えた。その組成を下記表11に示す。すなわち、C群（カゼイン）、WPI群（WPI）、 β -LG群（ β -ラクトグロブリン）、CP群（カゼイン加水分解物）、WP群（ α -WPI： β -LGのみを選択的に加水分解したもの）、GP群（ β -LG加水分解物）とし、いずれもコレステロール添加（10g/kg）とした。

【0065】

【表11】

飼料組成 (g/kg)							
飼料成分	C	WPI	β -LG	CP	WP	GP	
分離蛋白質 (200g蛋白質)	232.5	216.9	268.1	232.3	235.6	265.6	
コーン油	20	20	20	20	20	20	
ミネラル混合物	35	35	35	35	35	35	
ビタミン混合物	10	10	10	10	10	10	
コリン塩酸塩	2	2	2	2	2	2	
乳糖	41.0	41.0	0	40.6	36.3	12.4	
蔗糖	215.7	221.2	217.5	215.9	216.2	214.2	
澱粉	431.3	442.4	434.8	431.8	432.4	428.4	
コレステロール	10	10	10	10	10	10	
胆汁酸ナトリウム	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	

ミネラル及びビタミン混合物は、いずれもAIN-76であって、表2、表3に示したとおりである。

【0066】試験期間は14日間とし、2日毎に体重を測定し、食餌摂取量は13日目に測定した。実験食摂取後、14日目にラットを心臓採血により屠殺し、肝臓を取り出した。肝臓は、表面に付いた血液などをよく拭き

とり、0.9%塩化ナトリウム溶液で洗浄後、湿重量を測定した。これらの結果を下記表12に示す。

【0067】

【表12】

群	C	WPI	β -LG	CP	WP	GP
体重増(g/日数)						
日数 0-7	29.7±2.2a	22.7±3.6a	24.5±3.1a	26.5±2.6a	27.5±4.8a	30.3±0.8a
0-14	71.3±3.8a	61.8±6.9a	65.7±2.8a	71.2±4.7a	65.7±6.8a	68.8±2.5a
肝臓重量(g/100g体重)						
14日	5.65±0.2a	5.34±0.3a	5.53±0.1a	5.40±0.2a	5.54±0.3a	5.30±0.2a
食餌摂取量(g/日)						
13日	17.5±0.5a	17.1±1.0a	17.0±0.4a	17.0±0.8a	16.5±1.0a	16.0±1.0a

[0068] 血清は、3000rpm、15分間の遠心分離により調製した。14日目の血清については、血清総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂質、リン脂質を測定した。肝臓については総脂質、中性脂質、リン脂質、コレステロールを測定し、それぞれ下記

表13、表14の結果を得た。

[0069]

[表13]

群	C	WPI	β -LG	CP	WP	GP
血清総コレステロール (mg/dl)						
14日	146.4±14.8a	94.2±4.1b**	88.2±3.8b**	136.6±6.5a	82.2±5.0b**	97.0±3.9b**
HDLコレステロール (mg/dl)						
14日	44.8±2.9b	61.1±2.3a**	68.4±3.3a***	46.7±1.9b	65.2±3.5a**	64.3±3.8a**
LDL+VLDLコレステロール (mg/dl)						
14日	101.6±0.8a	33.1±2.1b***	18.8±3.1b***	89.9±18.6a***	17.0±1.7b***	32.7±3.0b***
血清トリグリセリド (mg/dl)						
14日	97.7±8.0b	120.6±18.7ab*	103.2±7.8b	125.3±8.5ab*	142.8±5.9a**	98.4±8.5b
血清リン脂質 (mg/dl)						
14日	144.4±6.9c	164.7±7.3bc*	158.3±8.3bc*	146.4±5.3bc	189.6±8.4a**	168.9±7.3ab*

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

[0070]

[表14]

群	C	WPI	β -LG	CP	WP	GP
(mg/g 肝臓)						
総脂質	126.8±3.8a	75.4±3.1d***	81.7±4.8bc***	102.9±5.8b**	84.8±7.1cd***	93.0±5.5bc**
コレステロール	17.8±0.9a	6.4±0.4b***	6.6±0.3b***	17.6±1.0a	8.1±0.6b***	8.4±0.6b***
トリグリセリド	40.2±2.3a	28.8±2.1c**	38.1±2.7ab	31.4±0.7bc*	39.5±2.3a	42.3±3.5a
リン脂質	68.8±2.3a	40.1±1.7c***	47.0±3.7bc***	54.0±5.5b*	37.3±4.8c***	42.4±1.8c***
(mg/100g 体重)						
総脂質	716.9±33.6a	404.1±30.5d***	506.8±25.8bc***	560.4±35.2b**	475.5±51.8cd***	493.2±31.7bc***
コレステロール	98.9±2.7a	34.4±3.1b***	35.8±2.2b***	95.1±1.9a	44.7±4.2b***	44.1±2.6b***
トリグリセリド	226.8±14.2a	154.9±15.3c**	210.8±15.8ab	171.1±8.3bc**	219.4±17.8a	225.0±20.4a
リン脂質	390.2±23.2a	214.8±15.4c***	230.3±18.5bc***	284.2±31.7b*	211.4±31.3c***	224.2±9.7c***
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001						

【0071】また、飼育期間中、6日目から13日目の
7日間糞を集め、全糞量、糞中の総ステロイド、酸性ス
テロイド、中性ステロイドをそれぞれ測定し、下記表1

5の結果を得た。
【0072】
【表15】

群	C	WPI	β -LG	CP	WP	GP
血清総コレステロール						
(mg/dl)						
14日	146.4 \pm 14.8a	94.2 \pm 4.1b*	88.2 \pm 3.8b**	136.6 \pm 6.5a	82.2 \pm 5.0b**	97.0 \pm 3.9b**
中性脂質						
(μ mol/3日間)						
54.7 \pm 3.4cd		56.9 \pm 3.8cd	52.7 \pm 3.0d	65.1 \pm 4.6c	97.9 \pm 5.0a***	76.4 \pm 2.7b***
中性脂質						
(μ mol/3日間)						
100.4 \pm 9.8c		210.5 \pm 15.3b***	216.8 \pm 15.1b***	244.6 \pm 18.6b***	305.2 \pm 12.7a***	282.6 \pm 9.8a***
中性脂質						
(μ mol/3日間)						
155.1 \pm 12.8c		257.4 \pm 16.7b***	259.5 \pm 16.7b***	309.8 \pm 22.3b***	403.1 \pm 15.2a***	359.0 \pm 7.6a***
中性脂質						
(g/3日間)						
160 \pm 0.08b		1.55 \pm 0.07b	1.52 \pm 0.06b	1.73 \pm 0.10b	2.65 \pm 0.08a***	2.36 \pm 0.04a***
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001						

【0073】これらの結果から明らかなように、体重増加量は14日間を通じて、各群間に有意な変化は見られなかった。また、食餌摂取量においても6群間に有意な変化が見られなかった。血清中の総コレステロールおよびLDL+VLDLコレステロールでは、そのままの乳清蛋白質およびその分画物群とそれらの加水分解物群で、共通してカゼイン群と比較して、有意に低下した。血清中のHDLコレステロールはカゼイン群と比較して、乳清蛋白質およびその分画物群とそれらの加水分解物群で、共通して有意に上昇した。血清リン脂質はカゼイン群およびカゼイン加水分解物群と比較して、他の4群で有意に上昇した。血清中性脂質はカゼイン群と比較

して、乳清蛋白質およびその加水分解物群で有意に上昇した。

【0074】肝臓脂質は、総脂質、コレステロール、中性脂質、リン脂質についての分析の結果、g肝臓あたりでは、総脂質は、カゼイン群と比較して、そのままの乳清蛋白質およびその分画物群とそれらの加水分解物群で、有意に減少した。コレステロールは、カゼイン群およびカゼイン加水分解物群と比較して他の4群で有意に減少した。中性脂質は、カゼイン群と比較して、乳清蛋白質群およびカゼイン加水分解物群で、有意に減少した。リン脂質は、カゼイン群と比較して、他の5群で有意に低下した。また、100g体重あたりにおいても同

様な結果が得られた。肝臓重量群間に有意な変化は認められなかった。

【0075】糞中の酸性ステロイドは、カゼイン群に比べて、乳清蛋白質およびその分画物の加水分解物群で有意に上昇した。糞中の中性ステロイドにおいては、カゼイン群に比べて他の5群で有意に上昇し、その中でも乳清蛋白質およびその分画物の加水分解物群で高い値を示した。糞中の総ステロイドでは、そのままの乳清蛋白質およびその分画物とそれらの加水分解物群は、共通してカゼイン群と比較して、糞中の総ステロイドを有意に上昇させた。糞重量では、乳清蛋白質およびその分画物の加水分解物群が有意に高い値を示した。

【0076】上記結果から明らかなように、そのままの乳清蛋白質およびその分画物とそれらの加水分解物は共通して、カゼインと比較して、血清コレステロール値を低下させることが確認された。さらに、糞中の総ステロイド排泄量でも、加水分解物はそのままの蛋白質と同様に、カゼインと比較して、糞中の総ステロイド排泄量を有意に上昇させた。加水分解しても、そのままの蛋白質と同様に血清コレステロール濃度を低下させる作用を維持しており、乳清蛋白質、その分画物、それらの加水分解物には、血清コレステロール濃度を低下させる成分があることが、これらの試験からも明らかにされた。

【0077】なお、これらの試験において、血清リン脂質、中性脂質及びHDLコレステロールの定量は、次のようにして行った。血清リン脂質の定量：市販のキット（リン脂質C-テストワコー；和光純薬工業株式会社）を用いて測定した。血清中性脂質の定量：市販のキット（トリグリカラーIII, BMY；ペーリンガー・マンハイム山之内株式会社）を用いて定量した。スタンダードは（プレチマットグリセロール；ペーリンガー・マンハイム山之内株式会社）を用いた。血清HDLコレステロールの定量：市販のキット（HDL-Cコレステラーゼ；日本製薬株式会社）を用いて測定した。

【0078】

【実施例4】ビタミンC 20g、グラニュー糖 50g、コーンスターチと乳糖の等量混合物30gに、製造例1で得たWPCを50g加えて十分に混合した。混合物を100等分して袋に詰め、1袋1.5gのスティック状コレステロール低減用栄養健康食品を100袋製造した。

【0079】

【実施例5】WPCにかえて製造例2で得たWPIを用

い、またビタミンC20gにかえてビタミンCとクエン酸の等量混合物20gを用いたほかは、実施例4と同様の処理をくり返し、十分に乾燥せしめた後、コレステロール低減性栄養健康食品を製造した。

【0080】

【実施例6】次の配合によりコレステロール低減剤を製造した。（1）製造例3で得た α -ラクトアルブミン組成物 50g、（2）ラクトース 90g、（3）コーンスターチ 29g、（4）ステアリン酸マグネシウム 1g。

【0081】まず、（1）、（2）、及び（3）（但し17g）を混合し、（3）（但し7g）から調整したペーストとともに顆粒化した。得られた顆粒に（3）（但し5g）と（4）を加えてよく混合し、この混合物を圧縮錠剤機により圧縮して、1錠あたり α -ラクトアルブミン組成物を10mg含有する錠剤1000個を製造した。

【0082】投与量は、患者の症状、年齢によっても異なるが、0.1~1500mg/kg/dayで1日1~4回投与する。本発明において用いる組成物は本来食品由来のものであるので、既述のように安全性にはほとんど問題はなく、したがって上記用量をこえて投与しても差し支えはない。また、健康の維持、増進、保健、栄養剤等としてこれを利用する場合は、上記用量よりも少ない量を長期間に亘って服用すればよい。また、既述のように本発明に係る製剤は、経口投与以外の方法でも投与することができるが、静脈投与及び筋肉投与の場合は、0.01~1200mg/kg/dayであり、通常の製剤と同様にして投与することができる。

【0083】

【実施例7】次の配合を用意した。（1）製造例6で得た β -ラクトグロブリン酵素分解物10g、（2）塩化ナトリウム 8g、（3）クロロブタノール 4g、（4）炭酸水素ナトリウム 1g。

【0084】全成分を蒸留水1000mlに溶解し、これを500mlの点滴ビン2本に分注し、コレステロール低減輸液を製造した。

【0085】

【発明の効果】本発明によれば、血清コレステロール濃度をきわめて効率的に低減せしめることができ、しかも安全性がきわめて高いので、血清コレステロール濃度低減のための予防ないし治療剤として有用であるだけでなく、そのための飲食品としても利用することができる。

フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁴

A61K 37/16

// A23C 21/02

識別記号

庁内整理番号

F1

技術表示箇所

8314-4C

(18)

特開平6-165655

(72)発明者 小 嶋 被

東京都東村山市栄町1-21-3 明治乳業
株式会社中央研究所内

(72)発明者 桑 田 有

東京都東村山市栄町1-21-3 明治乳業
株式会社中央研究所内



European Patent
Office

**SUPPLEMENTARY
EUROPEAN SEARCH REPORT**

Application Number
EP 03 77 0160

DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (IPC)
X	JP 06 165655 A (MEIJI MILK PROD CO LTD) 14 June 1994 (1994-06-14) "Composition for reducing cholesterol" * abstract *	3,5-7, 9-12, 14-16	INV. A61K38/17 A61P9/10
X	DEMLING R H ET AL: "Effect of a hypocaloric diet, increased protein intake and resistance training on lean mass gains and fat mass loss in overweight police officers" ANNALS OF NUTRITION AND METABOLISM, KARGER, CH, vol. 44, no. 1, 2000, pages 21-29, XP009087034 ISSN: 0373-0101 * abstract *	8-12	
X	WO 96/36239 A (MCLACHLAN CORRAN NORMAN STUART [NZ]) 21 November 1996 (1996-11-21) * page 7 - page 16; examples 1,2 *	3,5-7, 9-12, 14-16	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (IPC) A61K A61P A23L
The supplementary search report has been based on the last set of claims valid and available at the start of the search.			
Place of search Munich		Date of completion of the search 24 July 2007	Examiner Bobkova, Dagmar
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons & : member of the same patent family, corresponding document			

27

EPO FORM 1503 03.92 (P4/C04)

**ANNEX TO THE EUROPEAN SEARCH REPORT
ON EUROPEAN PATENT APPLICATION NO.**

EP 03 77 0160

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned European search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

24-07-2007

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 6165655	A	14-06-1994	NONE	
WO 9636239	A	21-11-1996	AT 297125 T	15-06-2005
			AU 723396 B2	24-08-2000
			AU 5510896 A	29-11-1996
			CA 2217820 A1	21-11-1996
			DE 69634831 D1	14-07-2005
			DE 69634831 T2	29-06-2006
			DK 0871366 T3	10-10-2005
			EP 0871366 A1	21-10-1998

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.